

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. P. H. Rossier

Arbeit unter Leitung von Privatdozent Dr. O. Spühler

Nachweis einer antidiuretischen Substanz im normalen menschlichen Urin

Beitrag zur Kenntnis der Neurohypophyse

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Georg Kaufmann

von Solothurn

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. P. H. Rossier
und PD Dr. O. Spühler

Zürich 1953

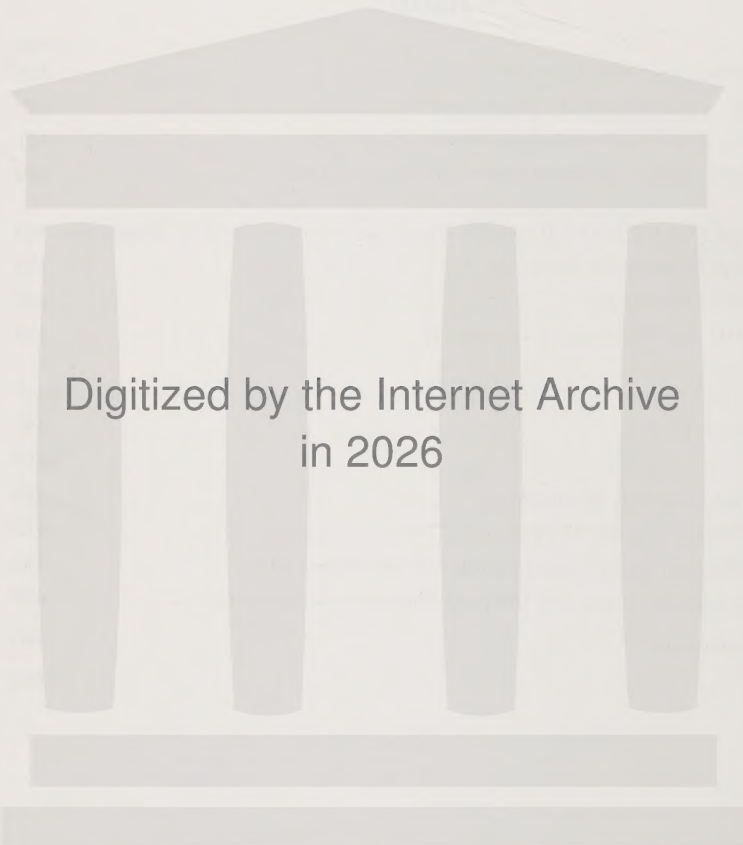
Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg



Sonderdruck aus Deutsches Archiv für klinische Medizin,
Band 200, Heft 4, Seite 419—441, 1953
(Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg)

Inhalt.

	Seite
I. Chemie des antidiuretischen Hormons	419
1. Die Wirkstoffe des Hypophysenhinterlappens	419
2. Ein- und Multihormonhypothese	421
3. Struktur des antidiuretischen Hormons im Urin	422
II. Die physiologische Bedeutung des antidiuretischen Hormons	423
1. Hypofunktionelle Zustände	424
2. Aktive Zustände	425
3. ADH und Mineralstoffwechsel	426
III. Eine antidiuretische Substanz im normalen menschlichen Urin	427
Vorbemerkungen	427
Technik	428
Ergebnisse und Besprechung	429
Fehlerquellen des Tierversuchs	432
Nichtneurohypophysäre antidiuretische Substanzen	435
Die Identifizierung mit dem antidiuretischen Hormon	435
Zusammenfassung	440
Literatur	440



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. P. H. ROSSIER).

Nachweis einer antidiuretischen Substanz im normalen menschlichen Urin.

Beitrag zur Kenntnis der Neurohypophyse.

Von

GEORG KAUFMANN.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Januar 1953.)

Adenohypophyse und Nebennierenrinde stehen heute im Brennpunkt des Interesses. Doch würde das Bild mancher endokriner Störungen durch eine eindeutige Bestimmung der von der Neurohypophyse gebildeten Hormone wertvoll bereichert. Diesem endokrinen Organ kommt eine beherrschende Stellung in der Regulation des Wasserstoffwechsels und wohl auch der Reproduktionsvorgänge zu. Es steht damit in unmittelbarer, teils synergistischer, teils antagonistischer Beziehung zur Adenohypophyse und zur Nebenniere.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den Nachweismöglichkeiten des *antidiuretischen Hormons* (ADH) im Urin. Bei der Auseinandersetzung mit den bisherigen Bestimmungsmethoden stellen sich 2 Vorfragen, die in einem ersten, allgemeinen Teil behandelt werden:

1. Welches sind die chemischen Eigenschaften des ADH?
2. Worin besteht seine physiologische Bedeutung, d. h. bei welchen Zuständen ist eine Vermehrung oder Verminderung der Hormonausscheidung zu erwarten?

Anschließend wird ein neues Verfahren beschrieben, womit im *normalen* menschlichen Urin eine antidiuretische Substanz nachzuweisen ist. Die neurohypophysäre Herkunft dieser Substanz steht zur Diskussion, indem bis heute das Vorkommen des ADH im Urin normaler Individuen mehrheitlich verneint wurde.

Dies führt uns schließlich zur Hauptfrage: mit welcher Sicherheit läßt sich das antidiuretische Hormon in den Körperflüssigkeiten identifizieren?

I. Chemie des antidiuretischen Hormons.

1. Die Wirkstoffe des Hypophysenhinterlappens.

Die chemischen Untersuchungen beschränken sich zur Hauptsache auf den Hypophysenhinterlappen, d. h. auf das peripherste Stück eines endokrinen Systems, in welches der andere Teil der Neurohypophyse, das Infundibulum, und der vordere Hypothalamus mit einbezogen

sind^{11, 18, 29}. Nach neuesten histologischen Untersuchungen^{5, 38, 44} spielt die Neurohypophyse vielleicht lediglich die Rolle eines hormonalen Speicherorgans.

Im Anschluß an eine erste Arbeit von DUDLEY¹³ haben 1928 KAMM und Mitarbeiter⁴¹ aus rohem Hinterlappenextrakt zwei biologisch verschieden wirksame Substanzen ausgeschieden, das *Vasopressin* und das *Oxytocin*. Ein weiterer Wirkstoff, das B-Hormon oder Intermedin, stammt aus der Pars intermedia des Hirnanhanges und gehört genetisch wie funktionell zur Adenohypophyse.

Die von KAMM gewählten Namensbezeichnungen leiten sich von den beiden biologischen Bestimmungsmethoden ab: Vasopressin wird in der Regel durch seine blutdrucksteigernde Wirkung bei intravenöser Injektion an enthirnten oder narkotisierten Tieren gemessen. Die Bestimmung des Oxytocingehaltes geschieht *in vitro* in streng kontrollierter Nöhr-lösung am Uterus jungfräulicher Meerschweinchen.

Wiederholt hat man versucht, vom Vasopressin ein chemisch verschiedenes sog. antidiuretisches Hormon abzutrennen^{31, 42}. Die Trennungsmethoden halten jedoch der Kritik nicht stand²⁰, so daß heute dem Vasopressin auch die antidiuretische Wirkung zuerkannt wird. Es sei hier gleich festgehalten, daß der blutdrucksteigernde Effekt unter physiologischen Verhältnissen *nie* beobachtet wird, wogegen die Hemmung der Wasserausscheidung als die eigentliche Funktion des Hormons zu betrachten ist.

Sowohl Vasopressin wie Oxytocin sind wasserlösliche *Polypeptide*. Sie gehören somit zur großen Gruppe der Proteohormone. Aus Lösungen, in welchen sie in hoher Konzentration vorhanden sind, z. B. aus rohen Hinterlappenextrakten, werden sie durch *Aussalzen* oder durch alkoholische Fällung von den niedrigmolekularen Beimengungen getrennt. Ferner lassen sich die beiden Wirkstoffe auch in großer Verdünnung quantitativ *adsorbieren*. Als Adsorbenten kommen Tierkohle, Kollodium, Kaolin, Permutit u. a. m. in Frage⁶⁶.

Sowohl nach Aussalzen wie nach Adsorption gelingt die Beseitigung der höhermolekularen Eiweiße durch kombinierte *Elutions-* und *Fällungsmethoden*. Aus einem derart konzentrierten Produkt können Vasopressin und Oxytocin weitgehend *getrennt* angereichert werden, indem sich die beiden Stoffe bei Elektrophorese⁴⁰ und bei bestimmten Fällungs- und Adsorptionsverfahren^{63, 73, 74} unterschiedlich verhalten. Durch Verbindung mehrerer solcher Trennungsverfahren erhält man hochkonzentrierte Fraktionen von Oxytocin und Vasopressin, die beide nur durch wenige Prozent der andern Fraktion verunreinigt sind.

Die *Analyse* der in den beiden Hormonen enthaltenen Aminosäuren ergab erst kürzlich eindeutige Resultate. Nach DU VIGNEAUD und seinen Mitarbeitern^{61, 78} bestehen die beiden Stoffe aus je einem Teil von acht

verschiedenen Aminosäuren und aus drei Teilen Ammoniak, vermutlich in Amidbindung. Die Bestandteile der beiden Hormonfraktionen stimmen weitgehend überein, doch unterscheidet sich Vasopressin durch seinen Arginingehalt und besitzt daher einen stärker basischen Charakter.

Die Verknüpfungsweise der verschiedenen Komponenten innerhalb der beiden wohl eng miteinander verwandten Polypeptidmoleküle ist zur Zeit Gegenstand weiterer Untersuchungen. Ebenso steht noch nicht fest, ob die acht Aminosäuren — und gleichermaßen die drei Ammoniakmoleküle — ein- oder mehrmals in den Polypeptiden enthalten sind. Entsprechend wird das Molekulargewicht der beiden Hormone auf wenig über 1000 oder auf ein Mehrfaches davon berechnet.

2. Ein- und Multihormonhypothese.

Wenn heute Vasopressin und Oxytocin als zwei chemische Einheiten mit Hormoncharakter anerkannt werden, so ist doch zu beachten, daß die beiden Substanzen Produkte eines bestimmten chemischen Vorgehens darstellen. Am Beginn der meisten bisher erwähnten Methoden steht ein Extraktionsverfahren, welches längeres Kochen des Hinterlappenspulvers mit verdünnter Säure oder in salziger Lösung einschließt. Es ist sehr wohl möglich, daß dabei ein größeres Molekül durch Hydrolyse in kleinere aktive Spaltprodukte *künstlich* aufgeteilt wird⁷⁹.

ABEL^{1, 2} war der Vorkämpfer gegen die These, es würden in der Neurohypophyse zwei voneinander unabhängige Hormone gebildet. Mehr theoretisch als durch exakten experimentellen Nachweis postuliert er ein gemeinsames Muttermolekül, ein „natives“ Hormon.

Die Annahme ABELS erfuhr 1942 eine Bestätigung durch die gründliche Arbeit von VAN DYKE und Mitarbeitern⁷⁹. Diese Autoren bereiteten *ohne* Hitzeanwendung einen Extrakt aus frischen Hypophysenhinterlappen. Durch Dialyse und wiederholte Fällungen in Acetat-Pufferlösungen gewannen sie einen einheitlichen Eiweißkörper mit einem Molekulargewicht von 30000. Das isolierte Protein besitzt, genau wie das Hinterlappen-Standardpulver, oxytocische und gefäßverengernde (bzw. antidiuretische) Aktivität im Verhältnis 1:1, welche Proportion auch in Lösung und in verschiedenen Fraktionen der Elektrophoresezone konstant bleibt.

Gegen die Annahme eines gemeinsamen nativen Hormons hat man vor allem geltend gemacht, daß VAN DYKE mit seinem Eiweißkörper nur 5% der gesamten Wirksamkeit des Hinterlappens erfaßt. Von den restlichen 95% soll ein beträchtlicher Teil dialysierbar und damit niedermolekular sein. Tatsächlich verhalten sich die aktiven Prinzipien von *frischem*, nichtbehandeltem Drüsenpreßsaft bei Elektrophorese *uneinheitlich*⁴⁰. Ferner können aus vorsichtig hergestellten Extrakten pressorische und oxytocische Substanzen ohne Anwendung drastischer Mittel durch bloße Adsorption an Permutit oder Tierkohle getrennt werden^{63, 83}.

Es scheint somit, daß im frisch entnommenen Hypophysenhinterlappen hoch- und niedrigmolekulare Wirkstoffe *nebeneinander* vorkommen. Ob allerdings die zweiten erst durch postmortale Fermentwirkung entstehen, wie VAN DYKE annehmen möchte, bleibe dahingestellt. Die Einhormonhypothese besagt lediglich, daß Vasopressin und Oxytocin *sekundär* von einem höhermolekularen Hormon abgespalten werden, sei es durch einen vitalen, postmortalen oder künstlichen Prozeß.

3. Struktur des antidiuretischen Hormons im Urin.

Der Begriff antidiuretisches Hormon (ADH), im deutschen Sprachgebrauch etwa auch Adiuretin, wurde von Physiologen geprägt. Sie verstehen darunter keinen chemisch definierten Körper, sondern die Gesamtheit der neurohypophysären Wirkstoffe, die für die Regulierung der renalen Wasserausscheidung verantwortlich sind. Vasopressin, VAN DYKES Protein und eventuelle Zwischenstufen sind darin einbezogen. Wir werden in Zukunft den Ausdruck „Vasopressin“ — ganz im Sinne KAMMS — nur dort verwenden, wo das chemisch weitgehend bestimmte Polypeptid in Frage steht. Dies gilt für die entsprechenden Handelspräparate (Pitressin, Tonephin u. a.), wo allerdings Spuren von Oxytocin die Wirkung komplizieren können. Dagegen wird überall dort, wo es sich nicht streng um das bloße Polypeptid handelt, von „ADH“ die Rede sein. Diese begriffliche Unterscheidung wird von den meisten neueren Autoren innegehalten; so handelt auch die gleich zu besprechende Arbeit VAN DYKES und seiner Mitarbeiter von der „Ausscheidung des antidiuretischen Hormons der hinteren Hypophyse im Urin“.

Bis heute ist es nicht geglückt, dieses Hormon im Blut oder Urin zu isolieren. Doch läßt sich mit einiger Wahrscheinlichkeit das im Harn ausgeschiedene ADH biologisch ermitteln. VAN DYKE und seine Mitarbeiter³ beschäftigen sich zur Zeit eingehend mit dem Verhalten des ausgeschiedenen ADH bei Dialyse und in der Ultrazentrifuge. Sie arbeiten mit dem Urin von durstenden oder osmotisch stimulierten Hunden. Die neurohypophysäre Natur der untersuchten Wirkstoffe ist hier mit praktischer Sicherheit bewiesen.

Während frühere Autoren glaubten, das im Harn ausgeschiedene ADH würde bei Dialyse quantitativ im Zellophansack zurückgehalten^{22, 39, 75}, wiesen nun AMES und Mitarbeiter³ nach, daß daneben eine mutmaßlich niedrigmolekulare Fraktion durch die Membran diffundiert. Entsprechend wird der höhermolekulare Hormonanteil in der Ultrazentrifuge sedimentiert, wogegen der niedrigmolekulare sich nicht anreichern läßt. Die beiden Fraktionen unterscheiden sich des weitern in ihrer Stabilität gegen Hitze. Der nichtdialysable, sedimentierbare Stoff büßt bei längerem Kochen seine antidiuretische Wirksamkeit ein; nur kurzes Erhitzen bis zum Siedepunkt bleibt ohne Einfluß. Der dialysable,

nicht sedimentierbare Stoff wird durch längeres Kochen in saurem Milieu nicht zerstört. Das Verhalten der beiden Fraktionen bei wechselnden physikalisch-chemischen Bedingungen ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Zu diesen Ergebnissen zeigen nun die im Hypophysenhinterlappen isolierten Stoffe merkwürdige Parallelen. Pitressin (PARKE-DAVIES' Vasopressinpräparat) diffundiert leicht durch dünne Zellophanmembranen¹²; VAN DYKES Protein dagegen wird bei Dialyse zurückgehalten, worauf unter anderem sein Darstellungsprozeß beruht. Schließlich sind die aktiven Prinzipien in ungekochten Hinterlappenextrakten und in frischem Preßsaft nur langsam und teilweise dialysabel²⁴, ein weiterer Hinweis für das Nebeneinander von Wirkstoffen verschiedener Molekülgröße in der Neurohypophyse.

In der Ultrazentrifuge werden VAN DYKES Protein und frischer Preßsaft, gemessen an ihrer biologischen Aktivität, quantitativ sedimentiert. Bei stark angesäuertem und gekochtem Preßsaft erscheint die Sedimentation erheblich verringert, bei Vasopressin (und Oxytocin) kann sie schließlich gerade noch nachweisbar sein oder ganz ausbleiben^{25, 64}.

Tabelle 1.

	Dialyse	Sedi- mentation	Kochfestigkeit
Preßsaft oder salziger Extrakt von Hypophysenhinterlappen	teilweise	+	+(Spaltung)
Vasopressin (Polypeptid)	+	±	+
Protein (Mol.-Gew. 30000)	—	+	+(Spaltung)
ADH im Urin	teilweise	teilweise	teilweise
Niedrigmolekulare Fraktion.	+	—	+
Höhermolekulare Fraktion	—	+	—

Die Übereinstimmung gewisser Eigenschaften der aus Hypophyse und Urin gewonnenen Hormone (vgl. Tabelle 1) erlaubt noch nicht den Schluß der chemischen Identität. Es fällt z. B. auf, daß die hochmolekulare Fraktion des Urins durch Kochen nicht gespalten, sondern zerstört wird. Allerdings würde eine exakte Gegenüberstellung des Kochens von VAN DYKES Protein mit inaktivem Urin verlangen; die Thermostabilität von Vasopressin, das mit inaktivem Urin gekocht wurde, ist nachgewiesen⁵⁶.

II. Die physiologische Bedeutung des antidiuretischen Hormons.

Aus der folgenden Übersicht soll hervorgehen, bei welchen physiologischen und pathologischen Zuständen eine Vermehrung, bei welchen eine Verminderung des ADH zu erwarten ist. Dabei zeigen sich gewisse Unterschiede zwischen einzelnen Tierarten und vor allem sehr erhebliche

Differenzen zwischen wachen und narkotisierten oder dezerebrierten Tieren. Diese letzte Diskrepanz hat in der Beurteilung der Wirkungen auf Kreislauf und Wasserausscheidung lange Zeit Verwirrung gestiftet⁸³.

Von den frühesten Untersuchern wurde dem Hypophysenhinterlappenextrakt eine *diuretische* Wirkung zuerkannt. MAGNUS und SCHÄFER⁴⁹ haben eine vermehrte Wasserausscheidung durch intravenöse Verabreichung hoher Extrakt Dosen an narkotisierten Tieren erzielt, d. h. unter ganz ähnlichen Versuchsbedingungen, wie sie zum Nachweis der Blutdrucksteigerung dienen. Wahrscheinlich sind die beiden Wirkungen parallel zu setzen, indem für den diuretischen Effekt ein erhöhter Filtrationsdruck der Nierencapillaren verantwortlich gemacht wird.

1913 entdeckten VON DEN VELDEN und FARINI unabhängig voneinander, daß der Hinterlappenextrakt bei Diabetes insipidus die Wasserausscheidung hemmt (ref. bei⁸¹). Seither gilt die *antidiuretische* Wirkung der Neurohypophyse als physiologisch. In wachem Zustand reagiert einzig die Ratte auf größere Extraktmengen mit Diurese, ein Sonderfall, von dem später noch die Rede sein wird (s. S. 426).

Die Rolle des ADH läßt sich an 2 Gruppen von Zuständen darstellen. Einmal bei vorübergehendem oder dauerndem Ausfall der Neurohypophyse, wobei künstliche Hormonzufuhr die Insuffizienz weitgehend korrigiert. Zum andern bei künstlicher Reizung des diencephalo-neurohypophysären Systems, deren antidiuretischer Effekt durch Vasopressin nachgeahmt werden kann.

1. Hypofunktionelle Zustände.

a) *Diabetes insipidus*. Bei vollständigem Ausfall der Neurohypophyse steht das Symptom der *dauernden Polyurie* im Vordergrund^{18, 29}. Die Niere ist unfähig, die ausgeschiedenen Elektrolyte zu konzentrieren, so daß mit der Exkretion der Schlackenstoffe große Wassermengen verloren gehen. Die Glomerulumfiltration — gemessen mit Kreatinin- oder Inulin-clearance — ist dabei nicht notwendig verändert. Die wesentliche Störung liegt am tubulären Apparat. Als *Ersatztherapie* genügt bei einem mittelgroßen Hund die Infusion von 1,0—5,0 mE Vasopressin je Stunde, um die Bereitung eines normal konzentrierten Urins zu gewährleisten⁶⁸.

b) *Diurese auf Wasserstoß*. Es war die zunächst unbewiesene These VERNEYS und seiner Mitarbeiter, daß der Vermehrung und Verdünnung des Urins nach kräftigem Wasserstoß eine Hemmung der Neurohypophyse zugrunde liege. Die Zufuhr von größeren Wassermengen schafft eine vorübergehende Hydrämie mit Anstieg der Gewebsflüssigkeit. Dabei fällt die maximale Wasserbelastung mit der maximalen Blutverdünnung zeitlich zusammen. Schon eine geringgradige Hydrämie — Absinken der Blutchloride um 5% des Normalpiegels — zieht Diurese nach sich. Das Maximum der Ausscheidung hinkt hinter demjenigen

der Blutverdünnung etwas nach. In dieser Frist von 15—20 min wird offenbar das in der Blutbahn zirkulierende ADH inaktiviert.

Für die Hemmung der Diurese genügt beim Hund 1 Mikroeinheit (μ E) Pitressin je Sekunde, ein Wert, der mit der zur Ersatztherapie des Diabetes insipidus notwendigen Hormonmenge praktisch übereinstimmt⁸¹. Beim Menschen sind für den antidiuretischen Effekt nur wenig höhere Quantitäten (0,1 mE Pitressin je Minute) erforderlich¹⁰. VERNEY nimmt an, daß diese Mengen von ADH im intakten Organismus *ständig* von der Neurohypophyse sezerniert werden, um die Urinkonzentration zu ermöglichen.

Bei dieser Betrachtungsweise erscheint die Diurese als eine Art „physiologischer Diabetes insipidus“. Dies paßt wohl am genauesten auf den erwachsenen Menschen, der die Glomerulumkonzentration ziemlich konstant hält^{71, 72}. Dagegen ist bei verschiedenen Tieren, namentlich beim Kaninchen, auch der glomeruläre Apparat an der Regulierung der Wasserausscheidung beteiligt^{58, 71}.

2. Aktive Zustände.

Sie werden an hydratisierten Tieren, d. h. nach vorgängiger Hemmung der normalen Sekretion der Neurohypophyse, geprüft. Als Gegenstück zur profusen Wasserdurese hat VERNEY gezeigt, daß nach osmotischer Druckerhöhung des Blutes von der Neurohypophyse ADH ausgeschüttet wird. In die Arteria carotis communis von Hunden werden stark hypertonische Lösungen einmalig injiziert; oder es können auch weniger hochkonzentrierte Lösungen während mehrerer Minuten in die Halsarterie oder in die Schenkelvene infundiert werden. Die Folge ist ein Abfall des Harnflusses.

Im allgemeinen ist der Charakter der injizierten Stoffe gleichgültig. Isoosmotische Lösungen von Kochsalz, Natriumsulfat und Fructose haben dieselbe Wirkung. Die Urinmenge wird bereits eingeschränkt, wenn der Kochsalzspiegel um 1,8% des totalen Betrages ansteigt.

Die Entfernung des Hypophysenhinterlappens, also nicht der gesamten Neurohypophyse, reduziert die antidiuretische Antwort auf hypertonische Lösungen auf ein Zehntel, ohne daß sich gleichzeitig dauernde Polyurie einstellte. Ein bescheidener Rest des Drüsengewebes genügt, um die mittlere Urinkonzentration zu gewährleisten, nicht aber für die feinere Regulierung des Wasserhaushaltes. Ebenso kann die künstliche Hormonverabreichung bei Diabetes insipidus niemals die regulativen Funktionen der Neurohypophyse ersetzen.

Die Hemmung der Wasserausscheidung gelingt nur bei Anwendung relativ wenig hypertonischer Lösungen und erreicht bald ihre Grenze. Werden nämlich hochkonzentrierte Elektrolyte injiziert oder durch Magensonde verabreicht, so tritt an die Stelle der Antidiurese eine

verstärkte Diurese. Die Urinkonzentration hat ihr Maximum erreicht, und um größere Mengen von Schlackenstoffen auszuschwemmen ist eine proportionale Erhöhung der Urinmenge notwendig. Diese *osmotische Diurese* beruht vermutlich auf einem rein renalen Anpassungsmechanismus und wird durch exogen zugeführtes Vasopressin überhaupt nicht beeinflusst. Trotzdem steigt die Sekretion des ADH auf Werte, die ein Vielfaches der maximalen wirksamen Hormonmenge betragen.

Auf diese Weise konnte O'CONNOR⁵⁶ an Hunden zeigen, daß die effektive neurohypophysäre Regulierung der Urinkonzentration innerhalb der geringen Sekretionsbreite von 0,05—0,30 mE ADH je Minute spielt. In diesem Bereich besorgt das ADH den Ausgleich geringer osmotischer Druckerhöhungen des Blutes, ohne daß dabei dem Organismus Wasser verlorenggeht.

Antidiuretische Effekte können auch auf anderem Weg ausgelöst werden. Neben den elektrischen Reizversuchen^{28, 29} interessiert vor allem die Diuresehemmung bei „emotional stress“. VERNEY brachte seine Hunde durch Muskelarbeit oder mittels einer Autohupe in einen psychischen Schockzustand und beobachtete dabei eine Antidiurese, welche an die Anwesenheit der Neurohypophyse gebunden war⁸¹.

Diese psychisch bedingte Diuresehemmung kann durch Einflüsse des sympathischen Nervensystems und durch Adrenalin blockiert werden. Andererseits fördern parasympathische Reize die Hormonausschüttung^{14, 58-60}. Wahrscheinlich steht die Neurohypophyse unter der Kontrolle eines vegetativ-nervösen Antagonismus, wobei die Wassereinsparung nach HESS der trophotropen Funktionslage zuzuordnen ist.

3. ADH und Mineralstoffwechsel.

Durch die Wassereinsparung werden die Elektrolyte des Urins konzentriert. Ob aber das Hormon gleichzeitig die *Gesamtmenge* der ausgeschiedenen Mineralstoffe beeinflusst, ob ihm namentlich eine chloridmobilisierende (chloruretische) Wirkung zukommt, blieb bis heute eine nicht eindeutig abgeklärte Streitfrage.

Offenbar bestehen in der Regulierung des Salzstoffwechsels erhebliche *Speciesunterschiede*. Die Ratte nimmt gleich eine Sonderstellung ein. Hier gilt die chloruretische Wirkung der Hinterlappenpräparate als typisch. Für die vermehrte Kochsalzausscheidung ist aber nicht etwa das Vasopressin, sondern das Oxytocin verantwortlich. Diese Fraktion ist auch in den Handelspräparaten des Vasopressins in geringen Mengen vorhanden. Hohe Dosen von oxytocinhaltigen Lösungen wirken überdies *diuretisch*, indem als Folge der erhöhten Salzausscheidung größere Wassermengen eliminiert werden müssen. Auch bei diesem Fall von osmotischer Diurese bleibt die Vasopressinfraktion wirkungslos.

Im Wasser- und Salzstoffwechsel der höheren Säuger spielt die Oxytocinfraktion anscheinend keine Rolle¹⁹. Dagegen herrschen über die Funktion des Vasopressins bzw. des ADH im Mineralhaushalt widersprechende Ansichten. Dies gilt besonders für den Hund^{27, 56, 68, 69, 72, 80}.

Der normale erwachsene Mensch reagiert auf Pitressininjektionen in physiologischen Dosen nicht mit Erhöhung der Salzausscheidung¹⁰. Heikler liegt das Problem bei Patienten mit Diabetes insipidus. Die gute Wirkung salzloser Diät und die Insuffizienz in der Bewältigung zusätzlicher Salzmenngen ist nicht ohne weiteres auf den Ausfall der fraglichen chloruretischen Wirkung des ADH zurückzuführen. Es liegt ja im Wesen der Störung, daß jede Salzbelastung automatisch eine Belastung des Wasserhaushaltes nach sich zieht, da die wassereinsparende Wirkung des ADH wegfällt. Dennoch erklärt der Verlust des Konzentrationsvermögens nicht alles. Wohl wird eine Hyperchlorämie außer bei Kindern¹⁷ selten festgestellt⁴⁸. Das schließt eine Vermehrung der Gesamtchloride im Körper des Kranken nicht aus. MACH⁴⁸ weist darauf hin, daß die Verschiebung von Wasser aus der intra- in die extracelluläre Flüssigkeit zu einem neuen osmotischen Gleichgewicht führen kann.

Trotz vieler offener Fragen mißt HELLER³⁴ in einer neueren Übersicht den salzausscheidenden Effekten des ADH eine untergeordnete Bedeutung zu. „Ein Vergleich der Einwirkung kleiner Dosen auf die renale Ausscheidung von Chloriden, Natrium und Kalium bei verschiedenen Säugetierarten spricht . . . gegen eine physiologische Rolle der Neurohypophyse im Mineralstoffwechsel.“

Andererseits sei auf den Antagonismus zwischen *Nebennierenrinde* und Neurohypophyse hingewiesen^{6, 7, 16, 21, 48, 70}. Er betrifft sicher die Wasserausscheidung, indem vor allem die Glucocorticoide die tubuläre Diurese begünstigen; vielleicht wird aber auch der Salzstoffwechsel gegensinnig beeinflusst. Bei Ausfall der Nebennierenrinde ist das ADH stark vermehrt, doch ist dies eher durch gestörten Abbau als durch vermehrte Bildung bedingt⁷⁰.

III. Eine antidiuretische Substanz im normalen menschlichen Urin. Vorbemerkungen.

Zur Anreicherung des im Urin ausgeschiedenen ADH verwendeten mehrere Autoren die Adsorption an Kollodium⁸², Tierkohle^{15, 23} oder an einen Niederschlag aus dem Gemisch von Zinksulfat und Kaliumferrocyanat^{54, 55, 76}. Elution und Fällung erfolgten in Anlehnung an die bei KAMM⁴¹ und andern Forschern beschriebenen Methoden.

Das Verfahren der Säulenchromatographie, erstmals von TSWETT zur Trennung von Farbstoffen angewandt, beruht auf der Erscheinung der Adsorption und wurde von POTTS und Mitarbeitern⁶³ für die Trennung und Analyse der neurohypophysären Hormone übernommen. Als

Adsorbens benützten sie *Permutit*, ein künstliches Natrium-Aluminium-silikat. Die Adsorption an diesen Stoff unterscheidet sich von den sog. neutralen Oberflächenprozessen, indem zwischen Permutitkörnern und Lösung ein reiner Kationenaustausch vor sich geht. Man spricht daher von *polarer Adsorption*.

Leider gelingt die Bindung des ADH an *Permutit* nur in elektrolyt-arter Lösung. Der Urin müßte vorerst dialysiert werden⁷⁵, wodurch bekanntlich die quantitative Ausbeute verunmöglicht wird.

Bei unseren Versuchen verwendeten wir *Aluminiumoxyd*, welches mit verdünnter Säure vorbehandelt wurde. Die Adsorption an eine solche Säule spielt sich nach den Untersuchungen von KUBLI⁴⁵ ebenfalls in Form eines Ionenaustausches ab, nur daß hier Anionen ausgewechselt werden. Ob auch für die Urinsubstanzen dieser Haftmechanismus gilt, muß dahingestellt bleiben. Die Elution der adsorbierten Stoffe gelingt durch Konzentrationserhöhung der primär an die Säule gebundenen Anionen, bei unsern Versuchen durch Eisessig.

Technik.

a) *Herstellung der Urinextrakte*. Möglichst frische Proben menschlichen Urins werden filtriert und mit Essigsäure auf p_{H} 3—4 gebracht, da in diesem Bereich die Hormone der Neurohypophyse am haltbarsten sind. 20 g mittelfeinen Aluminiumoxyds nach BROCKMANN (Merck, Darmstadt) werden unter Beklopfen in eine Chromatographieröhre von 15 mm Durchmesser eingefüllt. Die Säule wird oben und unten mit einem Wattebausch abgeschlossen. An das Elutionsgefäß wird ein leichter Unterdruck angelegt, so daß die Tropfenzahl bis 40 je Minute beträgt.

Zwei Al_2O_3 -Säulen werden mit 20 cm³ 1/4%iger Essigsäure durchgespült, anschließend werden je 50 cm³ Urin eingefüllt. Da dem Al_2O_3 immer etwas Soda beigegeben ist, wird durch die einfache Durchspülung der Säule mit verdünnter Essigsäure Kohlendioxyd frei⁴⁵. Die Säule war daher jeweils nicht ganz luftleer. Nach der Passage des Urins erfolgt die Elution mit Eisessig. Die erste Portion — etwa 15 cm³, bis der untere Wattebausch von den eluierten Farbstoffen angefärbt wird — ist noch stark wäßrig und unbrauchbar. Weitere 50 cm³ Eisessig lösen die meisten Urinfarbstoffe heraus und erscheinen als nur wenig wasserhaltige, meist lachsfarbene Flüssigkeit im Elutionsgefäß.

Diese zweite Portion von beiden Säulen wird zusammengegossen und mit 450 cm³ Schwefeläther versetzt. Ein mittel- bis grobflockiger Niederschlag fällt aus. Dieser wird filtriert, mit Äther nachgewaschen und getrocknet, hierauf in 10 cm³ Aqua bidest. aufgelöst und erneut filtriert. Die klare, meist goldgelbe Lösung wird möglichst rasch nach ihrer Bereitung dem Kaninchen injiziert.

Der gewonnene Extrakt ist 10mal konzentrierter als der ursprüngliche Urin. Er enthält wohl vor allem niedrigmolekulare Eiweißkörper und Polypeptide.

b) *Biologische Testung*. Die Methode folgt namentlich den Angaben von HELLER^{30, 33} und WALKER⁸². Als Testtiere dienten männliche Kaninchen mit einem Körpergewicht von 2,5—3,5 kg. Die Ernährung bestand in Grünfutter und Brot. Narkotica oder Hypnotica wurden nicht verwendet. Vor und während des Versuchs erhielten die Tiere durch Magensonde lauwarmes Leitungswasser, jedesmal 50 cm³ je Kilogramm Körpergewicht. Die Kaninchen wurden vor Versuchsbeginn

katheterisiert und der Katheter in der Harnblase belassen. Die Diurese kam gewöhnlich innerhalb 60—90 min nach der peroralen Wassergabe in Gang. Der Urin wurde in graduierte Glaszylinder aufgefangen. Die Menge betrug mindestens 1 cm³ je Minute. Bei ruhigen Tieren ergab das alle 5 min aufgezeichnete Urinvolumen ziemlich regelmäßige Kurven, welche einen flachen Bogen beschrieben. Doch kam in etwa der Hälfte aller Versuche ein regelmäßiger Harnfluß wegen schlecht sitzenden Katheters nicht zustande.

Das verwendete Vasopressinpräparat (Pitressin, Parke Davies) wurde mit 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt. Sowohl Hormonverdünnungen wie Urinextrakte wurden innert 15 sec in die Ohrrendvene injiziert. 0,25—5,0 mE Pitressin bewirkten quantitativ gut unterschiedene antidiuretische Effekte bei einer Genauigkeit von etwa 25% (Abb. 1). Doch sprachen die Tiere während der ersten Diureseperiode quantitativ etwas weniger stark an als in den folgenden.

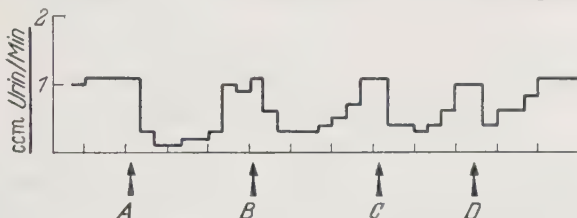


Abb. 1. Antwort auf verschiedene Dosen. Bei A 5,0 mE, bei B 2,5 mE, bei C 1,0 mE, bei D 0,5 mE Pitressin i. v. injiziert (Kurve nach 1 Wassergabe).

Da die Empfindlichkeit auf ADH von Tier zu Tier und von Tag zu Tag stark variiert, muß jeder Versuch für sich allein betrachtet werden.

Die Manipulationen der Magensondierung und des Kathetrismus bewirkten oft ihrerseits eine kurze Antidiurese, deren Ende abzuwarten war. Spontaner totaler Abbruch der Wasserausscheidung wurde nur selten und nur bei ausgesprochen reizbaren Tieren beobachtet. Die Untauglichkeit eines solchen Versuchs ließ sich leicht an den diarrhoischen Stühlen erkennen.

c) *Chloridbestimmungen.* Bei mehreren Versuchen wurde im Urin der Testtiere alle 10 min der absolute Chloridgehalt nach der modifizierten Methode von VOLHARD-HARVEY bestimmt⁵⁷.

Ergebnisse und Besprechung.

In Vorversuchen wurde der Verlauf der ungestörten Wasserdürese beim Kaninchen beobachtet, ferner die Empfindlichkeit der Tiere auf Pitressin und auf normalen, unbehandelten Urin geprüft.

Anschließend untersuchten wir in 50 Experimenten Extrakte von mutmaßlich normalem menschlichem Urin sowie Urinproben, denen eine bestimmte Menge Pitressin beigemischt wurde. Etwa die Hälfte der Testversuche lieferten verwertbare Resultate.

1. Die Kaninchen ertrugen ohne weiteres die intravenöse Injektion von 10 cm³ gewöhnlichen menschlichen Urins. Dabei trat meistens ein ganz schwacher antidiuretischer Effekt auf, der gerade noch an der Grenze der Faßbarkeit lag und höchstens 0,5 mE Pitressin — beides in der gleichen Zeit von 60 sec (!) injiziert — entsprach.

2. Sieben Urinextrakte von normalen Individuen bewirkten klare Diuresehemmung, deren Verlauf mit der antidiuretischen Kurve des Pitressins qualitativ übereinstimmte. In beiden Fällen sank die Harnmenge innerhalb 3—10 min nach der Injektion plötzlich ab und stieg dann wieder, je nach verwendeter Dosis, rascher oder langsamer an. Der Gehalt an antidiuretischer Substanz lag im Bereich von 2—10 mE

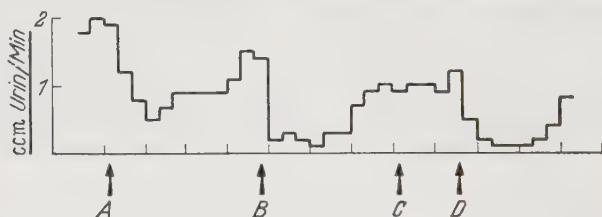


Abb. 2. Thermolabilität der ADS. Bei A 3,0 mE Pitressin, bei B 2,5 cm³ Extrakt von ungekochtem Urin, bei C 2,5 cm³ Extrakt desselben, jedoch gekochten Urins, bei D 2,5 mE Pitressin i. v. injiziert (Kurve nach 1 Wassergabe).

je 100 cm³ Urin (Abb. 4). Kein einziger Extrakt ließ die antidiuretische Wirkung völlig vermissen. Doch sprachen 2 Tiere auf sonst positive Extrakte nur schwach oder überhaupt nicht an, während die Empfindlichkeit auf Pitressin ungeschwächt war.

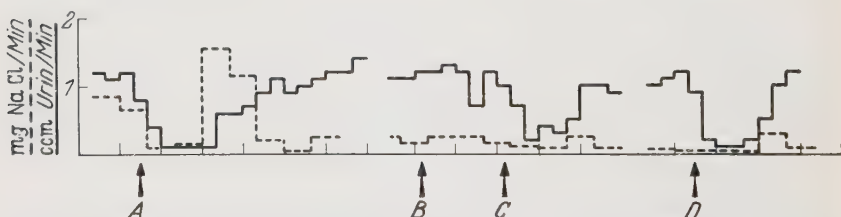


Abb. 3. Pitressin wird an Al₂O₃ nicht adsorbiert. Bei A 2,0 mE Pitressin, bei B 1 cm³ Extrakt von Pitressin-Uringemisch, was 2,5 mE entsprechen würde, bei C 2 cm³ Filtrat, bei D 0,5 mE Pitressin i. v. injiziert (Kurvenbeginn nach 1 Wassergabe). Das dem Urin beigegefügte Pitressin ist vollständig im Filtrat enthalten (0,5 mE auf 2 cm³).

3. Extrakt von 10 min lang bei p_H 3,5 gekochtem Urin blieb wirkungslos, während Pitressin bekanntlich thermostabil ist (Abb. 2).

4. Extrakte von gekochtem, inaktivem Urin, dem eine bestimmte Menge Pitressin (25 mE auf 100 cm³) zugefügt wurde, führten ebenfalls zu keinem antidiuretischen Effekt. Das Hormon konnte quantitativ in dem durch die Al₂O₃-Säule geronnenen Urin nachgewiesen werden (Abb. 3), wurde also nicht an die Säule adsorbiert.

5. Die Bestimmungen des Chloridgehaltes während der Antidiurese lieferten nicht immer eindeutige Ergebnisse. Im Gegensatz zur Messung des Harnflusses, die in dem geschlossenen System Nierenbecken-Ureteren-Harnblase-Katheter jede Schwankung der Flüssigkeitsausscheidung sofort erfaßte, machte sich bei der Bestimmung der Chloride eine merkliche

Parallaxe geltend. Diese zeitliche Verschiebung wechselte mit Größe und Ausdehnung der Harnblase von Versuch zu Versuch.

Ferner gab die Chloridbestimmung im Verlauf des Versuches nur bei den allerersten antidiuretischen Effekten einigermaßen vergleichbare Werte. Das rasche Verarmen des Urins an Chloriden und wohl auch die unkontrollierbare Mischung von chloridarmem und chloridreichem Harn in der Harnblase lieferten im späteren Teil des Versuches inkonstante Zahlen.

Pitressin bewirkte stets einen kurzen Anstieg der absoluten Chloridausscheidung parallel zur Diuresehemmung. Dieser *kurze chloruretische*



Abb. 4 I u. II. Antidiuretische und chloruretische Effekte. I Bei A 2,5 cm³ Urinextrakt, bei B 2,0 mE Pitressin i. v. (Kurve nach 1 Wassergabe). II Bei C 1,0 mE Pitressin, bei D 2,5 cm³ Urinextrakt i. v. injiziert (Kurve nach 1 Wassergabe).

Effekt konnte in 4 Fällen auch bei der antidiuretischen Substanz des Urins beobachtet werden, meist dann, wenn der wirksame Harnextrakt am Anfang der Versuche injiziert wurde (Abb. 4). Auch dort, wo der chloruretische Effekt nicht eindeutig war, haben wir *nie* ein Absinken der Chloride parallel zu Absinken der Urinmenge festgestellt. Wasser- und Salzausscheidung verhielten sich immer völlig *verschieden*. Die durch die menschliche Harnsubstanz hervorgerufenen antidiuretischen Effekte können also nicht auf einer bloßen Einschränkung der glomerulären Filtration beruhen. Die Befunde deuten vielmehr darauf hin, daß das Absinken des Urinflusses durch die Anregung der tubulären Wasserrückresorption zustande kommt.

Insgesamt ergaben sich einige *Übereinstimmungen* zwischen Pitressin und der im normalen menschlichen Urin festgestellten antidiuretischen Substanz (ADS): die antidiuretischen Kurven verlaufen ähnlich, der Effekt scheint in beiden Fällen auf der Hemmung der tubulären Wasserrückresorption zu beruhen und läuft (beim Kaninchen) wahrscheinlich mit einem kurzen Anstieg der absoluten Chloridausscheidung parallel.

Andererseits bestehen grundlegende *Unterschiede* zwischen den beiden Stoffen: die ADS des Urins wird an saures Aluminiumoxyd adsorbiert,

Pitressin nicht; die Harnsubstanz ist hitzeempfindlich; endlich bleibt sie bei einzelnen Testtieren wirkungslos.

Diese abweichenden Eigenschaften stehen nicht unbedingt in Widerspruch zur möglichen neurohypophysären Herkunft des Stoffes. Die von AMES und Mitarbeitern³ im Hundeurin gefundene hochmolekulare Fraktion des ADH wird ebenfalls durch Kochen zerstört. Allerdings stehen weitere Untersuchungen der Substanz noch aus. Es wäre namentlich von Bedeutung, ob sich hoch- und niedrigmolekulare Hormonfraktion des Urins bei der Elektrophorese von Vasopressin unterscheiden. Derartige Differenzen könnten das verschiedene Verhalten der Wirkstoffe bei Adsorption erklären. Wir vermuten, daß der basische Ampholyt Vasopressin an einem Anionenaustausch unbeteiligt bleibt und daher an der sauren Al_2O_3 -Säule nicht haftet. Umgekehrt dürfte die von uns gefundene antidiuretische Substanz eher sauren Ampholytcharakter besitzen, wie dies auch bei VAN DYKES Protein der Fall ist.

Die Nichtansprechbarkeit gewisser Tiere auf Urinextrakte wird uns im nächsten Kapitel noch beschäftigen. Vorher seien mehr als Arbeits-hypothesen denn als schlüssige Experimente noch einige Versuche mit Adsorption an *Tierkohle* vermerkt. In 3 Fällen wurde der durch die Al_2O_3 -Säule geronnene Urin (wohl zur Hauptsache Elektrolyte und ein Teil der Harnfarbstoffe enthaltend) mit Tierkohle geschüttelt. Elution und Fällung erfolgten genau gleich wie bei den übrigen Extrakten. Die Testung der Tierkohlepräparate am Kaninchen blieb in einem Fall ohne Antwort. Dagegen traten bei den andern beiden Extrakten wiederum typische antidiuretische Effekte auf in der Größenordnung von etwa 5 und 10 mE je 100 cm³ Urin. Es ist nicht sicher auszuschließen, daß bloße Reste, die der Adsorption an Aluminiumoxyd entgangen sind, nun an der Tierkohle haftenblieben. Gleichwohl liegt die Vermutung nahe, daß es sich um verschiedene Substanzen handelt. Es mag Zufall sein, daß die beiden aktiven Tierkohlefraktionen aus dem Urin von kranken Individuen stammten. Der eine Patient litt an Nephrose mit schweren Ödemen, der andere an einer klinisch nicht abgeklärten Oligurie bei guter Nierenfunktion. Ein nach derselben Methode verarbeiteter Normalurin besaß dagegen nur eine antidiuretisch wirksame Al_2O_3 -Fraktion; die 2. Fraktion war biologisch inaktiv⁶⁷.

Fehlerquellen des Tierversuchs.

Sämtliche in der Literatur mitgeteilten Nachweise von ADH in Körperflüssigkeiten lassen sich in 2 große Gruppen einreihen, je nachdem, ob die Testung an Tieren *gleicher* oder *fremder Art* durchgeführt wurde. Begreiflicherweise sind im 1. Fall weit weniger Fehlbestimmungen zu erwarten. Die Bestimmungen von Rattenurin an Ratten, von Kaninchenurin an Kaninchen und besonders von Hundeurin an Hunden haben

denn auch die weitaus schönsten Resultate gezeitigt. Trotzdem ist man häufig auf Untersuchungen der 2. Art angewiesen, indem z. B., wie bei der vorliegenden Arbeit, Extrakte von menschlichem Urin nicht ohne weiteres an menschlichen Testindividuen geprüft werden können.

Praktisch alle Nachweise von ADH an artfremden Tieren beruhen auf der Annahme, daß bei den neurohypophysären Hormonen keine Speciesunterschiede bestehen. Tatsächlich treten auf Vasopressin von Ochsen bei keiner Tierart irgendwelche Nebenwirkungen auf, und ebenso zeigt das aus Ochsenhypophysen gewonnene Protein von DYKES bei der Testung an Ratten, Katzen und Meerschweinchen konstante Hormonwirkungen.

Die im Urin ausgeschiedene hochmolekulare Fraktion des ADH wurde in dieser Beziehung nicht systematisch untersucht. Mit der von uns nachgewiesenen, vermutlich eiweißähnlichen ADS erhielten wir bei 2 Versuchstieren regelmäßig negative oder stark abgeschwächte Effekte. Es läßt sich vermuten, daß gewisse Kaninchen gegen die ADS aus menschlichem Urin inaktivierende *Antikörper* besaßen, während sie auf Vasopressin unverändert ansprachen. Vielleicht kann ein Teil der inkonstanten Befunde WALKERS⁸², der Extrakte und Konzentrate von Katzen- und Rattenurin an Kaninchen prüfte, hier eingereiht werden.

Von der Frage der artspezifischen Antihormone streng zu trennen sind alle *unspezifischen* Erscheinungen, die in eiweißähnlichen, mit-extrahierten *Begleitstoffen* ihre Ursache haben. So hat WALKER⁸² auf den „toxischen“ Effekt des Katzenurins bei Kaninchen aufmerksam gemacht, ohne die Natur der Giftwirkung näher zu bezeichnen. Ebenfalls ist bekannt, daß Ratten die subcutane Injektion von artfremden Urin-extrakten besser vertragen als die intraperitoneale Verabreichung. Mitunter wurde der Tod von Testtieren unmittelbar nach der Injektion beobachtet^{54, 72}.

Bei unseren eigenen Versuchen starb ein Kaninchen nach der intravenösen Injektion eines sonst unauffälligen Urinextraktes innert wenigen Sekunden mit den typischen Zeichen des *anaphylaktischen Schocks*, nachdem es vorher mehrmals auf Urinextrakte mit gewöhnlichen antidiuretischen Effekten geantwortet hatte. Bei späteren Untersuchungen der ADS des menschlichen Urins wurde der plötzliche Tod von Versuchstieren mehr als einmal festgestellt⁶⁷.

NOBLE⁵⁴ hat eine weitgehende Reinigung seiner menschlichen Urin-extrakte durch Ausfällung der störenden Eiweißkörper erreicht. Doch scheint es wahrscheinlich, daß damit auch die höhermolekulare Hormonfraktion beseitigt wurde. Die vollständige und routinemäßige Erfassung des ADH im menschlichen Urin steht vorläufig noch vor unüberwindlichen Schwierigkeiten.

Eine kurze Charakteristik der am häufigsten verwendeten Testtiere mag die Vorteile und Grenzen der biologischen Nachweismethoden im einzelnen beleuchten:

a) *Ratten*. Die Methode wurde 1931 von BURN⁹ angegeben und seither wiederholt modifiziert. Die Autoren arbeiteten mit einem großen Stock von Versuchstieren und waren auf Durchschnittswerte angewiesen. Bei großen Zahlen ergibt sich eine logarithmische Beziehung zwischen Hormondosis und Ausscheidungszeit nach einer bestimmten zugeführten Wassermenge^{39, 54}.

Das übliche Verfahren ist relativ unempfindlich. Weniger als 1 mE ADH je 100 g Körpergewicht der Testtiere ist nicht nachweisbar. Wirklich quantitative Resultate liefert einzig die intraperitoneale Injektion, doch treten dann auch häufiger unspezifische Reizwirkungen auf. Nach NOBLE⁵⁴ sollte die besser verträgliche, aber nur qualitativ auswertbare subcutane Injektion jeweils zum Vergleich herbeigezogen werden. Die Methode ist daher sehr umständlich.

Ein weit empfindlicheres intravenöses Verfahren wurde von JEFFERS und Mitarbeiter³⁹ angegeben. Allerdings sind bei dieser Mikrobestimmung keine Erfahrungen mit Extrakten aus Körperflüssigkeiten bekannt.

b) *Hunde*. Das Verfahren ist bedeutend feiner als die übliche Rattenmethode. 0,25 mE Pitressin, auch in starker Verdünnung einem mittelgroßen Hund intravenös injiziert, sind nachweisbar. Ferner können nacheinander mehrere Injektionen vorgenommen werden, so daß Testflüssigkeit und Lösungen mit bekannter Hormonmenge in ein und demselben Experiment zu vergleichen sind. Für diese *individuelle* Methode genügt jeweils ein einzelnes Testtier.

Zur Prüfung von arteigenem Blut und Urin ist der Hund ein ideales Versuchstier. Beobachtungen mit artfremden Flüssigkeiten liegen jedoch erst aus neuester Zeit vor. SMITH⁷² berichtet über nichtpublizierte Untersuchungen von RAISZ und RALLI, wonach Extrakte von normalem menschlichen Urin und von Lebercirrhoseurin wohl bei der Ratte anti-diuretisch wirken, beim Hund jedoch ohne Effekt bleiben. Diese verwirrenden Befunde sollen die Untauglichkeit der Rattenmethode illustrieren. Wir möchten jedoch, ohne die Arbeit direkt zu kennen, bezweifeln, ob die Testung menschlicher Urinextrakte am Hund wirklich verlässlicher ist als an der Ratte. Sehr wohl könnten sich beim Hund, in Analogie zu den Ausnahmereaktionen bei unseren eigenen Versuchen, inaktivierende Antikörper bemerkbar machen.

c) *Kaninchen*. Im Prinzip bestehen die gleichen Vorteile wie beim Hund, zusätzlich die geringere Kostspieligkeit in Anschaffung und Wartung. Hinderlich sind die unberechenbaren Erregungszustände einzelner Tiere, die zum vollständigen Versiegen des Harnflusses über längere Zeit führen können. Dieses Phänomen läßt sich leicht von der Vasopressinwirkung abgrenzen. Schwieriger ist die Unterscheidung

zwischen exogenen und endogenen hormonalen Effekten. Könnte nicht die intravenöse Injektion an sich, zumal sie nicht immer schmerzlos ist, zu einem „emotional stress“ und damit zur Einschränkung des Harnflusses führen? Dieser Einwand wurde durch die Erfahrung entkräftet, indem die Extrakte von inaktiviertem Urin regelmäßig wirkungslos blieben (vgl. Abb. 2 und 3). Es besteht daher kein Grund, an der Zuverlässigkeit der positiven antidiuretischen Effekte zu zweifeln.

Schließlich kann auch einmal der *Mensch* zur Testung von Extrakten dienen. Bisher jedoch wurden an menschlichen Individuen bloß sehr grobe Messungen mit nur stündlichen Urinkontrollen vorgenommen¹².

Nichtneurohypophysäre antidiuretische Substanzen.

Ein positiv ausfallender antidiuretischer Tierversuch beweist noch nicht den neurohypophysären Ursprung der nachgewiesenen Substanz. Die Hemmung der Wasserausscheidung, für sich allein betrachtet, könnte auf einen beliebigen Stoff zurückzuführen sein. Es gibt eine ganze Reihe von Körpern, die hier in Frage kommen.

Mit *Adrenalin* kann ein flüchtiger antidiuretischer Effekt erzeugt werden. Er beruht auf der Drosselung der Glomerulumfiltration und unterscheidet sich damit grundlegend von der Diureseeinschränkung durch das ADH. Auch der Kurvenverlauf ist von demjenigen des ADH völlig verschieden⁸¹.

Von größerem Interesse ist das sog. *vasodepressor material* (VDM), welches bei längeren Schockzuständen sowie bei chronischer Hypertonie im Blut von Hunden und Menschen nachgewiesen wurde. Es ist chemisch identisch mit *Ferritin*, einem eisenhaltigen, homogenen Eiweißkörper, der anscheinend in der Leber gebildet wird und sich aus Leberbrei extrahieren läßt^{50, 77}. Der Stoff schränkt durch Erhöhung der tubulären Rückresorption die Wasserausscheidung ein. Eine Wechselbeziehung zwischen Ferritin und Neurohypophyse wurde neuerdings vermutet, jedoch noch nicht experimentell belegt⁷⁵. Das Ferritin soll, wie zahlreiche Pharmaka, nur bei intakter Hypophyse die Diurese hemmen. Es wurde im Urin nie nachgewiesen, besitzt doch seine aktive Protein-komponente ein sehr hohes Molekulargewicht.

Ferner sind chemisch undefinierte Stoffe zu erwähnen, die mit der Wasserretention während der Schwangerschaft in Zusammenhang gebracht werden. Eine antidiuretische Substanz wurde aus der *Placenta* ausgezogen²⁴; eine andere, das sog. *Relaxin*, aus Blut und Ovarien schwangerer Tiere⁸⁴. In beiden Fällen wurde kein Übertritt in den Urin festgestellt.

Die Identifizierung mit dem antidiuretischen Hormon.

Für den strengen Beweis der neurohypophysären Natur einer ADS läßt sich eine Reihe von Forderungen aufstellen, die allerdings selten gesamthaft überprüft worden sind.

Absinken der ADS bei Diurese, Ansteigen bei Wasserentzug oder osmotischer Belastung.

Konstante (minimale) Werte bei Diabetes insipidus.

Quantitative Beziehung zu den physiologisch sezernierten Hormonmengen bei normalen Individuen.

Qualitative Vergleichbarkeit der antidiuretischen Kurven mit denjenigen von Vasopressin.

Die ersten beiden Kriterien sind *funktioneller* Art und können beim Menschen höchstens in beschränktem Umfang geprüft werden.

Die *quantitative* Schätzung der im Urin zu erwartenden Hormonmengen beruht auf der Kombination mehrerer empirischer Zahlenwerte. Wenn man einem Individuum (Mensch und verschiedene Tierarten verhalten sich hier übereinstimmend) ein bestimmtes Quantum Pitressin intravenös einverleibt, so sind davon etwa 12% im Urin nachweisbar^{32, 54, 56}. Der Rest wird vom Organismus, wohl zur Hauptsache in der Leber, abgebaut. Andererseits sezerniert ein mittelgroßer Hund nach VERNEYS⁸¹ Berechnung $1 \mu\text{E ADH}$ je Sekunde, in 24 Std also rund 70 mE. Falls Vasopressin und endogenes ADH gleichermaßen inaktiviert werden, dürfte im Tagesurin eines normal mit Wasser belasteten Hundes ein Durchschnittswert von etwa 10 mE ADH zu erwarten sein.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse beim Menschen. Die täglich ausgeschiedene ADH-Menge wäre nach den Untersuchungen von CHALMERS und Mitarbeiter¹⁰ etwa doppelt so groß wie beim Hund.

Der *qualitative* Charakter der antidiuretischen Kurven läßt sich nur bei den intravenösen Testmethoden an Hund und Kaninchen vergleichen. Bei BURNS Nachweis an Ratten sind die antidiuretischen Effekte kaum differenzierbar, da die Injektion der Test- oder Vergleichslösung schon vor dem Einsetzen der Wasserdiurese erfolgt.

Auf einem früher besprochenen Irrtum (vgl. S. 426) beruht die angeblich chloruretische Wirkung des ADH im Rattenversuch. Diese Eigenschaft wurde deshalb in der Liste der Erkennungsmerkmale des Hormons nicht erwähnt.

Aus der Fülle von experimentellen Bestimmungen des ADH in den Körperflüssigkeiten sollen im folgenden nur einige der wichtigsten Arbeiten herausgegriffen werden. Zudem beschränken wir uns auf mutmaßlich normale Individuen. Für die Befunde bei pathologischen Zuständen sei auf die kürzlich erschienene Arbeit von I. SCHINDL⁶⁷ verwiesen.

a) *ADH im Blut*. Nach AMES und Mitarbeiter³ lassen sich beim Hund im hypophysennahen Blut der innern und äußern Jugularvene geringe Mengen von ADH nachweisen, jedoch nur nach kräftiger Anregung der Neurohypophyse durch Wasserentzug. Blut normaler Tiere

liefert keinen antidiuretischen Effekt, und aus den Schenkelvenen entnommenes Blut bleibt in jedem Fall wirkungslos. Dieses Ergebnis steht mit den rechnerisch ermittelten kleinen Hormonmengen in gutem Einklang.

Demgegenüber haben BIRNIE und Mitarbeiter^{6, 7} im Herzblut von Ratten auch schon ohne Stimulation der Posthypophyse eine antidiuretische Substanz nachgewiesen, welche sehr wahrscheinlich mit dem ADH identisch ist. Sie bewirkt verstärkte tubuläre Wasserrückresorption, sie ist vermehrt nach starkem Wasserentzug und vermindert bei Wässerung, endlich fehlt sie bei hypophysenlosen Tieren. Den gleichen Befund konnte WALKER⁸² am Herzblut von Kaninchen erheben, hier allerdings erst nach längerer Dehydration. Es ist zu berücksichtigen, daß bei diesen kleinen Tieren mühelos ein Zwanzigstel der gesamten zirkulierenden Blutmenge aus dem Herzen entnommen und getestet werden kann, was bei größeren Tieren oder beim Menschen einer kräftigen Bluttransfusion innerhalb kürzester Zeit gleichkäme. Ferner enthält die Rattenhypophyse, bezogen auf das Körpergewicht, ungewöhnlich große Mengen von ADH im Vergleich mit andern Säugern. Entsprechend dürfte der Hormonspiegel im Rattenblut ausnehmend hohe Werte erreichen.

Die Ermittlung des ADH im menschlichen Blut soll nach mehreren Autoren möglich sein, wurde aber von VERNEY auf Grund quantitativer Überlegungen energisch bestritten. LLOYD und LABOTSKY⁴⁷ berichten nun neuerdings von Versuchen mit menschlichen Blutproben zu 5 oder 10 cm³, welche, bestimmt durch intraperitoneale Injektion an Ratten, 0,25—5,0 mE ADH je Kubikzentimeter Plasma enthalten sollen. Die Untersuchungen werden in direkter Anlehnung an den beim Herzblut von Ratten beschrittenen Weg als klinische Routinemethode mitgeteilt.

Obschon sich die Menge des fraglichen Stoffes im Blut anscheinend parallel zur funktionellen Belastung der Neurohypophyse verändert, können die Zahlen unmöglich den Blutspiegel des ADH ausdrücken. SLESSOR⁷⁰ hat mit Recht darauf hingewiesen, daß derart exzessive Hormonquantitäten Diarrhoe, Darmkoliken und Blässe hervorrufen müßten, während es sich bei den Versuchspersonen zum Teil um normale, ja sogar um diuretische Individuen handelt. Vielleicht wird die bei Ratten schwer differenzierbare Diuresehemmung durch eine hormonunspezifische Wirkung des in die Bauchhöhle gebrachten artfremden Serums vorgetäuscht.

Gegenüber diesen fragwürdigen Nachweisen erscheint es bedeutend wahrscheinlicher, daß bei Mensch und Hund die neurohypophysären Hormone im Blut nur sehr geringe Konzentrationen erreichen und unter physiologischen Verhältnissen kaum nachweisbar sind, eine Tatsache, die heute noch für die meisten endokrinen Stoffe zutrifft.

b) *ADH im Urin*. Die Ausscheidung des ADH in faßbaren Mengen bei *hyperfunktionellen* Zuständen der Neurohypophyse, d. h. bei Wasserentzug oder osmotischer Stimulation, gilt als gesichert. AMES und Mitarbeiter³ lieferten den wichtigen Hinweis, daß es sich dabei um zwei hormonale Fraktionen verschiedener Molekülgröße handelt. Bei den sehr unterschiedlichen Anreicherungsverfahren werden selten beide, meist nur die eine oder die andere Fraktion erfaßt.

In der ersten Arbeit von GILMAN und GOODMAN²² wurde der Urinrückstand nach Dialyse gegen fließendes Leitungswasser geprüft, also offenbar die höhermolekulare Hormonfraktion. Andererseits hat O'CONNOR⁵⁶ bei seinen viel genaueren Bestimmungen an Hunden die Urinproben jeweils gekocht und wies so wohl nur den thermostabilen, niedrigmolekularen Anteil nach. Dennoch konnte er in überzeugender Weise eine quantitative Beziehung zwischen osmotischer Stimulation und ausgeschiedenem ADH aufzeigen.

Mit der Adsorption an Tierkohle oder Kollodium dürften beide Hormonfraktionen erfaßt werden. Dagegen unterliegen die viel reineren Extrakte NOBLES^{54, 76} einer mehrmaligen Behandlung mit absolutem Alkohol, wodurch sehr wahrscheinlich der höhermolekulare, eiweißähnliche Wirkstoff verlorengeht. Immerhin wurde auf diese Weise das ADH im menschlichen Urin nicht nur nach Dehydration, sondern auch bei Ohnmacht und Elektroschock vermehrt vorgefunden. Quantitative Vergleiche sind auf Grund dieser relativ spärlichen Versuche kaum anzustellen.

Im Urin *normaler* Individuen wurde das ADH bisher nicht mit Sicherheit nachgewiesen. Die zu erwartenden Hormonmengen sind jedenfalls sehr klein; sie betragen für einen mittelgroßen Hund nach der oben angestellten Berechnung rund 10 mE in 24 Std. Es kann daher nicht erstaunen, daß mit nichtbehandeltem Urin normaler Hunde auch bei sehr empfindlichen Versuchsbedingungen keine antidiuretischen Effekte ausgelöst werden^{3, 56}. Wenn dagegen das ADH *angereichert* wird, etwa durch Adsorption an Tierkohle oder Kollodium, sollte es sich auch im Harn von Tieren mit freiem Wasserzutritt ermitteln lassen. In der Tat berichten WALKER⁸² und später ELLIS und GROLLMAN¹⁵ von positiven Resultaten. Die Zahlen der letzten Autoren (60—214 mE ADH im Tagesurin normaler Hunde) dürften allerdings zu hoch sein, wohl vorgetäuscht durch den biologischen Nachweis an Ratten.

Beim Menschen wäre, analog zu den Berechnungen für den Hund, eine Tagesmenge von etwa 20 mE ADH im Urin, d. h. wiederum 12% der mutmaßlichen sezernierten Menge, zu erwarten. Auch hier wird unbehandelter Urin meistens als biologisch inaktiv bezeichnet. Die Erfahrungen mit Konzentraten und Extrakten sind unterschiedlich. NOBLE⁵⁴ verneint jede antidiuretische Aktivität normalen Urins, doch scheint es — wie oben festgehalten wurde —, daß durch sein Extraktions-

verfahren eine Hormonfraktion zerstört wird. Dagegen haben ELLIS und GROLLMAN¹⁵ durch Adsorption an Tierkohle mit einiger Wahrscheinlichkeit das ADH im Urin von 9 Versuchspersonen nachgewiesen. Die Extrakte wurden an Ratten intraperitoneal geprüft und ergaben eine leicht verzögerte Urinausscheidung gegenüber hormonfreien Kontrolllösungen. Die Autoren haben auf eine Umrechnung in Millieinheiten ADH verzichtet, da die Bestimmungsmethode für die wenigen Versuche zu inkonstant ist.

Die hypophysäre Natur dieser antidiuretischen Substanz ist allerdings nicht bewiesen. Schon vor Jahren wurden durch Adsorption an Tierkohle Urinextrakte gewonnen, die an der dezerebrierten Katze blutdrucksteigernd wirkten. ARNOLD⁴ hat den Normalurin von Ratten, Hunden und Menschen auf gefäßverengernde und antidiuretische Wirkung untersucht. Zur Konzentration schlug er die Dialysiermethode von GILMAN und GOODMAN²² ein und konnte wirklich im Hunde- und Rattenurin eine pressorisch-antidiuretische Substanz nachweisen; menschlicher Urin blieb inaktiv. Allerdings lehnt er die Übereinstimmung dieser Substanz mit dem ADH ab. Mengenmäßig konnte er keine Parallele zur funktionellen Belastung der Neurohypophyse feststellen, vor allem aber ging die antidiuretische Wirkkraft durch Kochen mit n/I Natronlauge *nicht* verloren. Es ist nachträglich schwer zu entscheiden, ob die Methodik des Tierversuchs verwirrende Resultate lieferte oder ob es sich tatsächlich um ein besonderes antidiuretisches Material handelte.

Auf die inkonstanten Ergebnisse WALKERS⁸² wurde bereits mehrmals hingewiesen. Auch dieser Autor bestreitet die neurohypophysäre Natur der von ihm nachgewiesenen antidiuretischen Substanz(en), wobei jedoch in der Vielfalt seiner Einzelversuche eine Reihe von Ergebnissen durchaus nicht die Identität des wirksamen Stoffes mit dem ADH ausschließt.

Unsere eigenen Resultate stimmen quantitativ mit den kalkulierten Hormonmengen ziemlich überein. Wohl erhielten wir mit Extrakten von 100 cm³ Urin Effekte, die bis 10 mE Vasopressin entsprechen, während die auf 100 cm³ Urin geschätzte ADH-Menge nur etwa 2 mE beträgt. Doch dürfte diese Differenz in Anbetracht der Zufälligkeiten, die bei grober Überschlagsrechnung nicht berücksichtigt werden, kaum ins Gewicht fallen.

Die verschiedenen Erwägungen erlauben abschließend folgende Feststellung: Wir wiesen im normalen menschlichen Urin eine Substanz nach, die im Tierversuch einen zuverlässigen, quantitativ meßbaren antidiuretischen Effekt hervorruft. Die Hypothese, daß diese Substanz mit dem ADH der Neurohypophyse bzw. mit einer seiner Fraktionen identisch sei, läßt sich durch Vergleiche mit anderen Arbeiten und durch quantitative Überlegungen stützen.

Zusammenfassung.

Im normalen menschlichen Urin werden geringe Mengen einer anti-diuretischen Substanz ausgeschieden. Sie wird — *im Gegensatz* zu Vasopressin — an Aluminiumoxyd, das mit verdünnter Säure vorbehandelt wurde, adsorbiert und durch Kochen zerstört. Auch scheint sie bei einzelnen Versuchstieren durch artspezifische Antikörper inaktiviert zu werden. Andererseits fördert sie — *gleich* wie Vasopressin — die tubuläre Wasserrückresorption und bewirkt beim Kaninchen einen kurzen chloruretischen Effekt. Die mögliche Identität dieser Substanz mit der hochmolekularen Urinfraktion des antidiuretischen Hormons der Neurohypophyse wird auf Grund chemischer und physiologischer Überlegungen diskutiert.

Herrn Priv.-Doz. Dr. O. SPÜHLER möchte ich für die Überlassung des Themas, für die entscheidenden Anregungen und für die großzügige Leitung der Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen. Herr Dr. W. KOELLA, damals Oberassistent am Physiologischen Institut der Universität Zürich, vermittelte mir wertvolle Literatur. Fräulein M. STIEFEL besorgte einen großen Teil der chemischen Bestimmungen. Die wissenschaftlichen Mitarbeiter der Medizinischen Poliklinik standen mir mit manchem Ratschlag zur Seite. Ihnen allen bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Literatur.

- ¹ ABEL, J. J.: J. of Pharmacol. **40**, 139 (1930). — ² ABEL, J. J., C. A. ROUILLER and E. M. K. GEILING: J. of Pharmacol. **22**, 289 (1923). — ³ AMES, R. G., D. H. MOORE and H. B. VAN DYKE: Endocrinology **46**, 215 (1950). — ⁴ ARNOLD, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **190**, 360 (1938). — ⁵ BARGMANN, W., W. HILD, R. ORTMANN u. Th. H. SCHIEBLER: Acta neurovegetativa (Wien) **1**, 233 (1950). — ⁶ BIRNIE, J. H., W. J. EVERSOLE, W. R. BOSS, C. M. OSBORN and R. GAUNT: Endocrinology **47**, 1 (1950). — ⁷ BIRNIE, J. H., R. JENKINS, W. S. EVERSOLE and R. GAUNT: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **70**, 83 (1949). — ⁸ BOYLSTON, G. A., and A. C. IVY: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **38**, 644 (1938). — ⁹ BURN, J. H.: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **4**, 517 (1931). — ¹⁰ CHALMERS, T. M., A. A. G. LEWIS and G. L. S. PAWAN: J. of Physiol. **112**, 238 (1951). — ¹¹ COLLIN, R., et F. STUTINSKY: J. de Physiol. **41**, 7 (1949). — ¹² DONALDSON, W.: J. Clin. Invest. **26**, 1023 (1947). — ¹³ DUDLEY, H. W.: J. of Pharmacol. **14**, 295 (1919). — ¹⁴ DUKE, H. U., M. PICKFORD and J. A. WATT: J. of Physiol. **111**, 81 (1950). — ¹⁵ ELLIS, M. E., and A. GROLLMAN: Endocrinology **44**, 415 (1949). — ¹⁶ EVERSOLE, W. J., J. H. BIRNIE and R. GAUNT: Endocrinology **45**, 378 (1949). — ¹⁷ FANCONI, G.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1938**, 203. — ¹⁸ FISHER, C., W. R. INGRAM and S. W. RANSAN: Arch. of Neur. **34**, 124 (1935). — ¹⁹ FRASER, A. M.: J. of Pharmacol. **60**, 89 (1937). — ²⁰ FRASER, A. M.: J. of Physiol. **100**, 233 (1941). — ²¹ GAUNT, R., J. H. BIRNIE and W. J. EVERSOLE: Physiologic. Rev. **29**, 281 (1949). — ²² GILMAN, A., and L. GOODMAN: J. of Physiol. **90**, 113 (1937). — ²³ GROLLMAN, A., and B. WOODS: Endocrinology **44**, 409 (1949). — ²⁴ HAM, G. C., and E. M. LANDIS: J. Clin. Invest. **21**, 455 (1942). — ²⁵ HAM, G. C., and M. ROSENFELD: Bull. Hopkins Hosp. **71**, 18 (1942). — ²⁶ HARE, R. S., K. HARE and D. M. PHILLIPS: Amer. J. Physiol. **140**, 334 (1944). — ²⁷ HARE, K., R. C. HICKEY and R. S. HARE: Amer. J. Physiol. **134**, 240 (1941). — ²⁸ HARRIS, G. W.: Philos. Trans. B **232**, 385 (1947). — ²⁹ HARRIS, G. W.: Physiologic. Rev. **28**, 139 (1948). — ³⁰ HELLER, H.: J. of Physiol. **89**, 81 (1937). — ³¹ HELLER, H.: J. of Physiol. **96**, 337 (1939). — ³² HELLER, H.: J. of Physiol. **98**, 405 (1940). — ³³ HELLER,

- H.: J. of Physiol. **99**, 246 (1941). — ³⁴ HELLER, H.: *Experientia* (Basel) **6**, 368 (1950). — ³⁵ HELLER, H., and F. H. SMIRK: J. of Physiol. **76**, 1 (1932). — ³⁶ HELLER, H., and F. H. SMIRK: J. of Physiol. **76**, 283 (1932). — ³⁷ HELLER, H., and F. F. URBAN: J. of Physiol. **85**, 502 (1935). — ³⁸ HILD, W.: *Virchows Arch.* **319**, 526 (1951). — ³⁹ JEFFERS, W. A., M. M. LIVEZEY and J. H. AUSTIN: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **50**, 184 (1942). — ⁴⁰ IRVING jr., G. W., and V. DU VIGNEAUD: J. of Biol. Chem. **123**, 485 (1938). — ⁴¹ KAMM, O., T. B. ALDRICH, I. W. GROTE, L. W. ROWE and E. P. BUGBEE: J. Amer. Chem. Soc. **505**, 73 (1928). — ⁴² KAMM, O., I. W. GROTE and L. W. ROWE: J. of Biol. Chem. **92**, LXIX (1931). — ⁴³ KLISIECKI, A., M. PICKFORD, P. ROTHSCHILD and E. B. VERNEY: *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B* **112**, 496 (1933). — ⁴⁴ KOELLA, W.: *Schweiz. med. Wschr.* **1951**, 785, 819. — ⁴⁵ KUBLI, H.: *Diss. ETH Zürich* 1945. — ⁴⁶ KUSCHINSKY, G., u. H. E. BUNDSCHUH: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **192**, 683 (1939). — ⁴⁷ LLOYD, C. W., and J. LABOTSKY: *J. Clin. Endocrin.* **10**, 318 (1950). — ⁴⁸ MACH, R. S.: *Les troubles du métabolisme du sel et de l'eau.* Lausanne u. Paris: Ed. Roth-Masson 1946. — ⁴⁹ MAGNUS, R., and E. A. SCHÄFER: J. of Physiol. **27**, 9 (1901). — ⁵⁰ MAZUR, A., and E. SHORR: J. of Biol. Chem. **176**, 771 (1948). — ⁵¹ MELVILLE, K. I.: J. of Exper. Med. **65**, 415 (1937). — ⁵² MELVILLE, K. I., and K. HARE: *Endocrinology* **36**, 332 (1945). — ⁵³ MURPHEY, R. J. F., and E. A. STEAD: *J. Clin. Invest.* **30**, 1055 (1951). — ⁵⁴ NOBLE, R. L., E. R. PLUNKETT and N. B. G. TAYLOR: *Recent. Progr. in Hormone Res.* **5**, 263 (1950). — ⁵⁵ NOBLE, R. L., H. RINDERKNECHT and P. C. WILLIAMS: *Lancet* **1938 I** 13. — ⁵⁶ O'CONNOR, W. J.: *Quart. J. Exper. Physiol.* **36**, 21 (1950). — ⁵⁷ PETERS, J. P., and D. D. VAN SLYKE: *Quantitative Clinical Chemistry, II. Methods.* London: Baillière, Tindall & Cox 1932. — ⁵⁸ PICKFORD, M.: J. of Physiol. **95**, 226 (1939). — ⁵⁹ PICKFORD, M.: *Physiologic. Rev.* **25**, 573 (1945). — ⁶⁰ PICKFORD, M., and A. E. RITCHIE: J. of Physiol. **104**, 105 (1945). — ⁶¹ PIERCE, J. G., and V. DU VIGNEAUD: J. of Biol. Chem. **186**, 77 (1950). — ⁶² PINCUS, G., and K. V. THIMANN: *The Hormones, Chemistry, Physiology and Applications, Bd. II.* New York: Academic Press Inc. Publ. 1950. — ⁶³ POTTS, A. M., and T. F. GALLAGHER: J. of Biol. Chem. **154**, 349 (1944). — ⁶⁴ ROSENFELD, M.: *Bull. Hopkins Hosp.* **66**, 398 (1940). — ⁶⁵ SARTORIUS, O. W., and K. ROBERTS: *Endocrinology* **45**, 273 (1949). — ⁶⁶ SCHAUMANN, O.: *HEFFZERS Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Erg.-Werk III.* Berlin: Springer 1937. — ⁶⁷ SCHINDL, I.: *Helvet. med. Acta* **19**, 238 (1952). — ⁶⁸ SHANNON, J. A.: J. of Exper. Med. **76**, 371 (1942). — ⁶⁹ SHANNON, J. A.: J. of Exper. Med. **76**, 387 (1942). — ⁷⁰ SLESSOR, A.: J. of Clin. Endocrin. **11**, 700 (1951). — ⁷¹ SMITH, H. W.: *Bull. New York Acad. Med.* **23**, 177 (1947). — ⁷² SMITH, H. W.: *The kidney, structure and function in health and disease.* New York: Oxford University Press 1951. — ⁷³ STEHLE, R. L.: *Erg. Vitamin- u. Hormonforsch.* **1**, 114 (1938). — ⁷⁴ STEHLE, R. L., und A. M. FRASER: J. of Pharmacol. **55**, 136 (1935). — ⁷⁵ STUECK jr., G. H., S. H. LESLIE and E. P. RALLI: *Endocrinology* **44**, 325 (1949). — ⁷⁶ TAYLOR, N. B. G., and R. L. NOBLE: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **73**, 207 (1950). — ⁷⁷ THEOBALD, G. W., and M. WHITE: J. of Physiol. **78**, 18 P (1933). — ⁷⁸ TURNER, A. R., J. G. and PIERCE V. DU VIGNEAUD: J. of Biol. Chem. **191**, 21 (1951). — ⁷⁹ VAN DYKE, H. B., B. F. CHOW, R. O. GREEP and A. ROTHEN: J. of Pharmacol. **74**, 190 (1942). — ⁸⁰ VERNEY, E. B.: *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B* **99**, 487 (1926). — ⁸¹ VERNEY, E. B.: *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B* **135**, 25 (1947). — ⁸² WALKER, A. M.: J. Amer. Physiol. **127**, 519 (1939). — ⁸³ WARING, H., u. F. W. LANDGREBE: *Siehe PINCUS u. THIMANN.* — ⁸⁴ ZARROW, M. X.: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **71**, 705 (1949).

Dr. GEORG KAUFMANN, Kant.-Zürch. Heilstätte Altein, Arosa (Schweiz).

Curriculum vitae.

Am 7. Juni 1924 wurde ich in Zürich geboren. Hier besuchte ich die städtische Primarschule und das kantonale Gymnasium. Die Mittelschule schloß ich 1943 mit der eidgenössischen Maturitätsprüfung ab. Für das Medizinstudium immatrikulierte ich mich an der Universität Zürich, mit Ausnahme von je einem klinischen Semester in Genf und Paris. In Zürich bestand ich auch die beiden propädeutischen Prüfungen sowie im Sommer 1950 das eidgenössische Staatsexamen.

Verzeichnis der

Die 1. Juni 1904 wurde die folgende Liste
aufgestellt in der Erwartung, dass die
Bibliothek der Mittelschule für 1904 mit der
gekauften Bibliothek von 100 Bänden
ausgestattet werden wird. Die Liste ist
mit Angabe der Preise und der
Bibliographischen Angaben in der
Bibliographischen Zeitschrift für
1904 veröffentlicht.